

PELESTARIAN BIAK-BIAK KAPANG DENGAN MINYAK PARAFIN

TRIADI BASUKI

Pusat Penelitian Botani - LBN, Bogor

PENDAHULUAN

Berbagai eia pelestarian jasad renik telah digunakan orang dalam usaha mengurangi pekerjaan rutin pemeliharaan suatu koleksi biak jasad renik dalam jumlah besar. Salah satu cara tersebut dilakukan dengan menggunakan minyak mineral. Cara ini berasal dari Lumiere dan Chevrotier yang dalam tahun 1914 mengadakan penelitian gonokokus (Hartsell 1956). Beberapa peneliti seperti Ungermann, Michael, Morton dan Pulaski merupakan pelopor penggunaan cara tersebut untuk melestarikan biak bakteri (Fennell, Raper & Flickinger 1950). Sherf merupakan orang pertama yang dalam tahun 1943 menggunakan cara tersebut untuk melestarikan biak kapang (Buell & Weston 1947, Fennell, Raper & Flickinger 1950).

Di Pusat Penelitian Botani - LBN (Laboratorium Treub), cara tersebut telah digunakan oleh Chaulan (1951) dalam tahun 1948. Dengan menggunakan minyak motor SAE 20 steril ia berhasil melestarikan sebanyak 74 dari 112 biak kapang selama 8 - 20 bulan, serta 81 dari 94 biak khamir selama 10 bulan. Tetapi ia tidak berhasil melestarikan biak *Sporobolomyces*. Dari catatan yang ada pada arsip lembaga, dalam tahun 1961 biak-biak yang ditumbuhkan kembali oleh Chaulan itu dan sebagian koleksi biak lainnya dipindahkan ke media miring agar taoge dalam tabung reaksi. Setelah tumbuh dengan baik biak-biak ini dilestarikan dengan minyak parafin, disimpan tegak dalam lemari kayu dalam suhu kamar. Dalam tahun 1976 biak-biak tersebut dicoba ditanam kembali. Hasil penanaman kembali biak-biak kapang ini dilaporkan dalam tulisan berikut ini,

BAHAN DAN CARA KERJA

Pengamatan dilakukan terhadap 179 biak kapang yang meliputi 48 marga dan 80 jenis yang ditanam kembali.

Secara aseptis, sedikit biakan diambil dari bawah lapisan minyak parafin, ditekankan pada dinding tabung sebelah dalam untuk mengurangi minyak parafin yang terbawa, kemudian dipindahkan ke media miring agar taoge. Penanaman tiap biak dilakukan dalam tabung reaksi rangkap tiga. Kemudian

biak-biak tersebut dieramkan selama delapan sampai sepuluh hari. Biak-biak yang belum tumbuh dicoba ditanam serta dieramkan kembali. Bilamana pada akhir penanaman ulang keempat tidak menunjukkan adanya pertumbuhan, biak tersebut dinyatakan "mati".

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dasar cara pelestarian ini ialah mengurangi penyediaan oksigen bagi jasad renik untuk menghambat tingkat respirasinya yang berakibat menurunkan tingkat metabolisme hingga menimbulkan hambatan pertumbuhan. Dari 179 biak yang dilestarikan, 123 biak ternyata masih hidup, sedang 56 biak lainnya mati (lihat tabel). Semua biak yang hidup tumbuh pada penanaman kembali pertama kali. Secara keseluruhan pertumbuhan ini dapat dikatakan jelek dan lambat. Hal ini dapat dimengerti mengingat pertumbuhan normal biak-biak tersebut telah terhambat dalam waktu yang lama, di samping masih adanya pengaruh minyak parafin yang terbawa. Pertumbuhan semakin baik bilamana biak-biak tersebut dipindahkan ke agar media baru. Pada umumnya, pertumbuhan yang baik ditemukan pada pemindahan ketiga kalinya.

Ketinggian angka daya pengecambahan biak-biak tersebut, yaitu 68,71%, merupakan suatu angka yang tidak diduga sebelumnya bilamana dibandingkan dengan data lain yang pernah dilaporkan. Apalagi bila diingat bahwa pelestarian biak-biak tersebut dilakukan dalam suhu kamar negara tropik yang berbeda dengan suhu kamar negara-negara beriklim sedang tempat asal data pembandingan. Sekalipun sebagian besar jenis-jenis kapang yang dilestarikan tersebut hanya terdiri atas satu biak, hasil penanaman kembali memberikan indikasi akan ketahanan jenis-jenis tersebut secara individu. Hasil ini sekaligus memperkuat pendapat sebelumnya tentang kebaikan agar taoge untuk pertumbuhan jasad renik (Saono 1970).

Mengenai pelestarian biak kapang dengan minyak parafin, Hutchinson pernah melaporkan kepada Weston bahwa ia berhasil melestarikan *Mucor* dan *Monilia* selama enam tahun (Buell & Weston

Tabel 1. Daya pengcambahan biak-biak kapang setelah dilestarikan dengan minyak paiafin dalam suhu kamar (26°C t 1), selama 15 tahun

Jenis	Jumlah biak	Keadaan setelah ditanam kembari		Jenis	Jumlah buK	Keadaan setelah ditanam kembait	
		hidup	mati			hidup	mati
OOMYCETES							
Peronosporales							
<i>Pythium aphanidermatum</i>	1	-	1	<i>Aspergillus</i> sp.	28	18	10
ZYGOMYCETES				<i>Aspergillus clavatus</i>	1	1	-
Mucorales				<i>Aspergillus fbrvus</i>	2	2	-
<i>Absidia</i> sp.	1	-	1	<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	1	1
<i>Absidia spinosa</i>	1	-	1	<i>Aspergillus javanicus</i>	1	-	1
<i>Absidia Ikhtheimii</i>	1	-	1	<i>Aspergillus luchuensis</i>	1	-	1
<i>Circinell mucoroides</i>	1	1	-	<i>Aspergillus niger</i>	4	3	1
<i>Greinella sydowi</i>	1	-	1	<i>Aspergillus rugolusus</i>	1	1	-
<i>Mucor circinelloides</i>	1	-	1	<i>Aspergillus tamarii</i>	1	1	-
<i>Mucor globosus</i>	1	-	1	<i>Aspergillus terreus</i>	1	1	-
<i>Mucor hiemalis</i>	1	-	1	<i>Aspergillus ustus</i>	1	1	-
<i>Mucor javanicus</i>	2	1	1	<i>Cephalosporium</i> sp.	1	1	-
<i>Mucor pusilus</i>	1	-	1	<i>Cylindrocladium</i> sp.	1	1	-
<i>Mucor racemosus</i>	1	-	1	<i>Geotrichum</i> sp.	1	1	-
<i>Rhizopus arrhizus</i>	1	1	-	<i>Gliocladium</i> sp.	1	1	-
<i>Rhizopus oryzae</i>	2	-	2	<i>Gliomastix</i> sp.	1	1	-
<i>Rhizopus stolonifer</i>	1	-	1	<i>Microsporium</i> sp.	1	1	-
<i>Blakeslea trispora</i>	1	1	-	<i>Monilia</i> sp.	2	2	-
<i>Choanephora simsoni</i>	1	-	1	<i>Monilia sitophUa</i>	2	1	1
<i>Cunninghamella</i> sp.	5	1	4	<i>Penicillium</i> sp.	29	25	4
<i>Cunninghamella bertholletiae</i>	1	1	-	<i>Penicillium capreolinum</i>	1	-	1
<i>Cunninghamella elegans</i>	1	-	1	<i>Penicillium glaucum</i>	1	1	-
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	1	1	-	<i>Penicillium lilacinum</i>	1	1	-
ASCOMYCETES				<i>Penicillium Tn.luteum</i>	1	1	-
Eurotiales				<i>Penicillium olivacum</i>	1	-	1
<i>Monascus purpureus</i>	1	-	1	<i>Penicillium purpurogenum</i>	1	-	1
<i>Penicillium clavariaeformis</i>	1	-	1	<i>Penicillium rubellum</i>	1	1	-
Hypocreales				<i>Scopulariopsis</i> sp.	1	1	-
<i>Sphaerostilbe repens</i>	1	1	-	<i>Sporotrichum</i> sp.	2	2	-
Shaeitiales				<i>Thielaviopsis paradoxa</i>	1	-	1
<i>Chaetomium</i> sp.	2	2	-	<i>Trichoderma</i> sp.	4	4	-
BASIDIOMYCETES				<i>Trichoderma koningii</i>	1	1	-
Agaricales				<i>Trichoderma viride</i>	1	1	-
<i>Volvariella volvacea</i>	1	-	1	<i>Trichothecium luteum</i>	1	1	-
<i>Tomitomyces eurhizus</i>	1	-	1	<i>Verticillium</i> sp.	1	1	-
Polyporales				<i>Verticillium lateritium</i>	1	1	-
<i>Polyporus</i> sp.	4	1	2	<i>Pullularia pululans</i>	1	1	-
HYPHOMYCETES				<i>Heterocephalum aurantiacum</i>	1	-	1
<i>Pestalotia</i> sp.	4	3	1	<i>Cylindrocarpon</i> sp.	1	1	-
<i>Alternaria</i> sp.	2	2	-	<i>Fusarium</i> sp.	8	5	3
<i>Cladosporium</i> sp.	8	7	1	COELOMYCETES			
<i>Curvularia maculans</i>	1	1	-	<i>Hymenopsis</i> sp.	1	1	-
<i>Nigrospora</i> sp.	2	1	1	<i>Ascochyta pisi</i>	1	1	-
<i>Papularia arundinis</i>	1	1	-	<i>Botryodiplodia theobromae</i>	5	5	-
<i>Trichosporium</i> sp.	1	1	-	<i>Microxyphium</i> sp.	1	1	-
				<i>Phoma betae</i>	1	1	-
				Total	179	123	56

19*, Fennell 1960). BueU & Weston (1947) sendiri her ha si 1 melestarikan berbagai jenis kapang daii hiEB Mucorales, Endomycetales, Euotiales, Sfcfaeriaks. Moniliales, Melanconiales, Miselia ste- •Sa dan Basidiomycetes selama 12 - 24 bulan. Beberapa peneliti mendapatkan kenyataan bahwa can ini kurang berhasil digunakan untuk melestarifluu biak-biak kapang bangsa Mucorales. Fennell, Raper & Flickinger (1950) dalam membandingkan berbagai cara pelestarian untuk biak-biak kapang bangsa Mucorales hanya berhasil mendapatkan 26 biak yang tumbuh dengan "baik sekali" dan 95 biak dengan "baik" dari 245 biak, setelah dilestarian selama 2 - 2Vi tahun dalam minyak mineral. Hesseltine, Bradle & Benjamin (1960) dalam usaha melestarikan 199 biak kapang bangsa Mucorales hanya berhasil menumbuhkan kembali 79 biak, setelah dilestarian dalam suhu 5 — 6°C selama 11 tahun. Kecenderungan akan kenyataan ini ditemukan pula dalam hasil penanaman kembali biak-biak kapang, seperti dapat dilihat pada tabel 1. Dari tabel tersebut dapat diketahui bahwa daii 26 biak kapang bangsa Mucorales (anggota marga *Absidia*, *Circinella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Blakeslea*, *Choanephora*, *Cunninghamella* dan *Syncephalastrum*) hanya tujuh biak saja yang masih hidup setelah dilestarian selama 15 tahun.

Akibat masa pelestarian selama 15 tahun, beberapa biak marga *Aspergillus* dan *Penicillium* ditemukan mengalami kemunduran dalam pertumbuhannya, dengan tidak menunjukkan pembentukan konidia. Walaupun demikian, sebagian besar biak-biak yang ditanam kembali, seperti *Chaetomium*, *Ckdosporium*, *Nigrospora*, *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Botryodiplodia*, *Microxyphium*, *Phoma*, *Microsporium* dan *Trichoderma*, menunjukkan pertumbuhan yang sangat baik.

Pengamatan terhadap biak-biak pembentuk pigmen menunjukkan bahwa pigmen tetap terbentuk oleh biak-biak tersebut, baik di bawah minyak parafin maupun pada agar media segar. Pigmen merah ditemukan di bawah pertumbuhan beberapa biak *Fusarium* dan *Botryodiplodia*; pigmen hitam ditemukan pada pertumbuhan biak *Ckdosporium*. Beberapa biak *Penicillium* menghasilkan pigmen putih kekuningan pada agar media. Pengujian fisiologi untuk mengetahui lebih lanjut adanya kemunduran kemampuan biak tidak dilakukan karena tidak tersedia data lengkap biak-biak tersebut pada awal saat pelestarian dilakukan.

Secara umum dapat dikatakan bahwa akibat pelestarian dalam waktu lama dalam minyak parafin,

biak-biak kapang kelihatan kotor, menyerupai kapas lusuh. Namun tidak ada satu biak pun yang tercemari oleh kutu. Akibat penguapan ait dari bagian media yang tidak terendam minyak parafin, bagian tersebut menjadi berkeriput. Untuk menghindari keadaan semacam ini serta mengingat kebutuhan jasad renik akan oksigen, Edwards, Buell & Weston (1947) berkesimpulan bahwa kedalaman paling baik minyak parafin untuk melestarikan jasad renik ialah 1 cm di atas biakan (ujung atas agar media miring). Dengan cara ini pelestarian biak kapang paling lama yang pernah dilaporkan ialah 22 tahun (Onions 1973), dengan penumbuhan kembali 88% dari 58 biak kapang yang dilestarian.

DAFTAR PUSTAKA -rt#J,-:?'i'ci " W -

- BUELL, C.B. & WESTON, W.H. (1947). Application of the mineral oil conservation method to maintaining collections of fungous cultures. *Amer. J. Bot.* 34 : 555 - 561.
- CHAULAN, C.G. (19510). Het bewaren van schimmelcultures onder olie. *Madj. Ilmu Alam* Indon. 107 : 33 - 38.
- EDWARDS, G.A., BUELL, C.B. & WESTON, W.H. (1947). The influence of mineral oil upon the oxygen consumption of *Sordaria fimicola*. *Amer. J. Bot.* 34 : 551 - 555.
- FENNELL, D.I., RAPER, K.B. & FLICKINGER, M.H. (1950). Further investigation on the preservation of mold cultures. *Mycologia* 42 : 135 - 147.
- FENNELL, D.I. (1960). Conservation of fungous cultures. *Bot. Rev.* 26 : 80 - 124.
- HARTSELL, S.E. (1956). Maintenance of cultures under paraffin oil. *App. Microbiol.* 4:350-355.
- HESELTEINE, C.W., BRADLE, B.J. & BENJAMIN, C.R. (1960). Further investigation on the preservation of molds. *Mycologia* 52: 762-774.
- ONIONS, A.G.S. (1973). Storage of fungi by mineral oil and silica gel for use in the collection with limited resources. Dalam PESTANA DE CASTRO, A.F., DASILVA, E.J., SKERMAN, V.B.D. & LEVERITI, W.W. (Eds.) *Proc. Second Intern. Conf. Culture Coll.* : 104-113.
- SAONO, S. (1970). Culture Collection in the Treub Laboratory of the National Biological Institute. Dalam IIZUKA, H. & HASEGAWA, T. (Eds.) *Proc. First Intern. Conf. Culture Coll.* : 73 - 77.